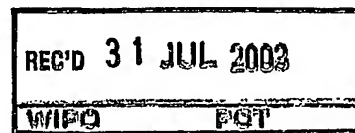


10/511205
14 OCT 2004



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 102 17 254.4

Anmeldetag: 15. April 2002

Anmelder/Inhaber: ProteoSys AG, Mainz/DE

Bezeichnung: Verwendung von Substanzen zur Behandlung von Tumoren

IPC: A 61 K 38/17

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 12. Mai 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Wehner

BEST AVAILABLE COPY

Anmelderin: ProteoSys AG
Carl-Zeiss-Straße 51
55129 Mainz

Unser Zeichen: P 41 660 DE

15. April 2002
TM/AP/nw

Beschreibung

Verwendung von Substanzen zur Behandlung von Tumoren

5

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung eines Wirkstoffes sowie ein Verfahren zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, diagnostischen Nachweis von mit diesen Tumoren assoziierten Erkrankungen, sowie diesbezügliche pharmazeutische Zusammensetzungen und

10 Kits.

Unter Tumor wird eine Geschwulst bzw. die örtlich umschriebene Zunahme des Gewebevolumens verstanden. Im weiteren Sinne kann jede lokalisierte Anschwellung, z. B. durch ein Ödem, einer akuten und chronischen Entzündung, aneurysmatische Erweiterung, einer entzündlich bedingten Organschwellung (z. B. als sogenannter Milztumor) verstanden werden. Im engeren Sinne werden unter Tumor gewebliche Neubildungen (Gewächs, Plastom, Neoplasie) in Form eines spontanen, verschiedengradig enthemmten, autonomen und irreversiblen Überschußwachstums von körpereigenem Gewebe, das in der Regel mit unterschiedlich ausgeprägtem Verlust spezifischer Zell- und Gewebefunktion verbunden ist, verstanden.

Die Tumore werden zur besseren Klassifikation unterteilt in:

I. nach ihrem biologischen Verhalten:

1. benigne (gutartige) Tumore mit differenzierten Zellen und langsamen, lokal verdrängendem Wachstum.
2. maligne (bösartige) Tumore mit Zellkernpolymorphie, Zellatypie, Anaplasie und infiltrierendem, meist raschem, destruierendem Wachstum und Metastasierung.
3. semimaligne Tumore mit den histologischen Kennzeichen maligner Tumore und lokal infiltrierendem Wachstum, jedoch in der Regel ohne eine Metastasierung.

II. histogenetische Systematik:

Hierbei werden die Tumore klassifiziert anhand des Gewebes, aus dem sie entwicklungsgeschichtlich hervorgegangen sind. Es gibt:

1. epitheliale Tumore, die aus Ektoderm und Entoderm hervorgegangen sind:
 - a) benigne Tumore wie z. B. Adenom, Papillom und Polypen.
 - b) maligne Tumore wie z. B. Karzinom.
2. mesenchymale Tumore, hervorgegangen aus dem Mesoderm:
 - a) benigne Tumore wie z. B. Lipom, Fibrom, Osteom, Myom, Leiomyom, Rhabdomyom, Chondrom,
 - b) maligne Tumore wie z. B. die Sarkome.
3. embryonale Tumore sind aus undifferenziertem Gewebe hervorgegangen. Hierzu zählen z. B. Neuroblastome, Neuroblastome, Medulloblastome, Retino-

blastome sowie embryonale Rhabdomyosarkome und Teratome.

III. Klassifikation nach klinischen und pathologischen Befunden:

5 Unter anderem gelten hier die TNM-Klassifikation, Grading, Laurén-Klassifikation, Dukes-Klassifikation, Kieler-Klassifikation, Rappaport-Klassifikation etc.

10 Schon diese kurze Übersicht der Tumoreinteilung zeigt, welche Vielfalt (und zum Teil Gegensätzlichkeit) innerhalb der verschiedenen Tumorarten bestehen. So ist z. B. nicht nur zwischen benignen und malignen Tumoren zu unterscheiden, sondern auch zwischen Mortalität bzw. Letalität der einzelnen Tumore und die Wahrscheinlichkeit, daß sich ein benigner Tumor in einen malignen Tumor weiterentwickelt.

15 Einzelne Tumore wie z. B. die Mammakarzinome (Brustkrebs), der häufigste maligne Tumor der Frau, treten gehäuft vor allem zwischen dem 45. und 70. Lebensjahr auf. Frühsymptome sind verdächtige Tastbefunde, die in der Regel infolge der Krebsfrüherkennungsuntersuchungen
20 sowie bei regelmäßiger Selbstuntersuchung der Brust entdeckt werden. Abhängig von Tumorstadium und Differenzierungsgrad des Tumors kann dabei die Prognose von durchaus positiv bis sehr schlecht ausfallen. Infolge der frühen lymphogenen und hämatogenen Metastasierung bei Mammakarzinomen kommt es auf eine rasche Diagnostizierung des
25 Tumors an, um frühstmöglich mit der Therapie einsetzen zu können.

Prostatakarzinome (Karzinom der Prostata) ist demgegenüber der häufigste maligne Tumor des Mannes, der vor allem zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr auftritt. In der Mehrzahl handelt es sich dabei um Adenokarzinome. Dieser maligne Tumor breitet sich durch infiltrierendes
30 Wachstum zunächst innerhalb der Prostata aus, später erfolgt eine Infiltration von Bläschendrüsen und Beckenbindegewebe, relativ selten

auch von Rektum, Harnblase oder Urethra. Die Metastasierung erfolgt lymphogen und/oder hämatogen. Die Therapie erfolgt abhängig vom histologischen Differenzierungsgrad und klinischem Stadium in der Regel durch radikale Prostatektomie mit regionaler Lymphknotenausräumung, im fortgeschrittenem Stadium Entzug der männlichen Sexualhormone. Auch hierbei ist die Prognose abhängig vom Stadium des Karzinoms. Während in einem sehr frühen Stadium nach einer radikalen Prostatektomie in ca. 90 % der Fälle eine Heilung eintritt, ist bei fortgeschrittenem Stadium eher mit einer pessimistischen Prognose zu rechnen.

10

Prostatakarzinome sind von Prostatahyperplasie in der Diagnose zu unterscheiden. Bei der Prostatahyperplasie handelt es sich um einen benignen Tumor. Dabei vergrößert sich die Prostata durch numerische Zunahme der Zellen und Drüsen des Stromas. Die Prostatahyperplasie ist die häufigste Ursache von Blasenentleerungsstörungen bei Männern. Klinisch beginnt sie vor allem zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr. Der Verlauf ist langsam und schubweise. Das Auftreten von Beschwerden erfolgt dabei meistens erst nach Jahren mit allmählicher Abschwächung des Harnstrahls und verzögertem Miktionsbeginn. Hierbei kann als Therapie bzw. Linderung der Symptomatik die Verabreichung von Phytotherapeutika in Betracht gezogen werden.

20

Da generell eine frühe Erkennung, d. h. Diagnostizierung, der Tumore für den raschen Therapiebeginn wichtig ist und auch die Prognose um so besser ist, je früher der Tumor erkannt wird, sind eine Reihe von sogenannten Tumormarker im klinischen Einsatz. Unter Tumormarker werden dabei allgemein Substanzen und zelluläre Veränderungen bezeichnet, deren qualitative oder quantitative Analyse eine Aussage über Vorliegen, Verlauf oder Prognose von (bösartigen) Erkrankungen ermöglichen können. Eingeteilt werden Tumormarker in:

25

30

1. Zelluläre Tumormarker:

Darunter fallen unter anderem zellmembranständige Tumorantigene, Rezeptoren (z. B. Hormonrezeptoren, Rezeptoren für wachstumsfördernde Substanzen bei Leukämie) und Zellmarker, die auf eine vermehrte Expression von Onkogenen und ein monoklonales Zellwachstum hindeuten, sowie molekulargenetische zelluläre Veränderungen, vor allem Chromosomenaberrationen.

2. Humorale Tumormarker:

Diese sind gegenüber physiologischen Bedingungen in Serum, Urin und anderen Körperflüssigkeiten in erhöhten Konzentrationen nachweisbare (meist physiologisch vorkommende) Substanzen, die vom Tumorgewebe synthetisiert und/oder sezerniert, durch Tumorzerfall freigesetzt oder als Reaktion des Organismus auf einen Tumor gebildet werden. Die physiologische Bedeutung von Tumormarkern ist nur unzureichend bekannt. Im menschlichen Organismus wirken sie in der Regel nicht immunogen. Die klinische (diagnostische) Bedeutung ist abhängig von ihrer Spezifität und Sensitivität. Die humoralen Tumormarker werden in zwei Gruppen unterteilt. In der ersten Gruppe werden die humoralen Tumormarker zusammengefaßt, die vom Tumor selbst produziert werden. Darunter fallen z. B. tumorassoziierte Antigene, bestimmte Hormone (z. B. Gastrin, Cortisol etc.), Enzyme (z. B. neuronspezifische Enolase (NSE)), sowie Proteine (z. B. Bence-Jones-Protein). In der zweiten Gruppe sind die Tumormarker enthalten, die vom Tumor zwar induziert, aber nicht selbst produziert werden. Wichtige humorale Tumormarker dieser Gruppe sind z. B. alkalische Phosphatase (AP), LDH, Neopterin etc.

Die bisher gemachten Aussagen zeigen, wie wichtig selektive und sensitive Nachweisverfahren für Tumore sind. Weiterhin besteht ein großer Bedarf an neuen Targets bei der Tumorthherapie.

- 5 Dementsprechend stellt sich die Erfindung die Aufgabe, neue Wirkstoffe und Targets für diagnostische und therapeutische Anwendungen bei der Tumorthherapie bereitzustellen.

- 10 Überraschenderweise konnte in Experimenten mit verschiedenen Tumoren gezeigt werden, daß bestimmte Proteine nur in dem von Tumoren befallenen Gewebe synthetisiert und/oder sezerniert wurden. Damit spielen diese Proteine eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Tumoren und dem Verlauf einer Tumorerkrankung.

- 15 Demzufolge wird die erfindungsgemäße Aufgabe durch den Gegenstand der unabhängigen Ansprüche 1 bis 5, 14, 18, sowie 22 gelöst. Bevorzugte Ausführungen sind in den abhängigen Ansprüchen 6 bis 13, 15 bis 17, 19 bis 21 sowie 23 genannt. Der Inhalt aller dieser Ansprüche wird hiermit durch Bezugnahme zum Inhalt der Beschreibung gemacht.

20

- Erfindungsgemäß kann mindestens ein Wirkstoff zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, verwendet werden. Dabei beeinflusst dieser Wirkstoff die Expression und/oder die Funktion von vom Tumor synthetisierten und/oder sezernierten Protei-
- 25 nen in eukaryotischen Zellen, wodurch die Zunahme des Gewebevolumens und/oder die Metastasierung des Tumors zumindest partiell gehemmt wird. Unter Beeinflussung der Expression und/oder Funktion der vom Tumor synthetisierten und/oder sezernierten Proteine wird insbesondere die Inhibierung dieser Proteine verstanden. Dieser Wirkstoff
- 30 kann ferner zur Herstellung eines Medikamentes oder einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren verwendet werden.

Weiterhin wird die Verwendung einer Substanz zum Nachweis der Expression und/oder der Funktion von von Tumoren, insbesondere malignen Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen in eukaryotischen Zellen, zur Erkennung von Erkrankungen, die mit diesen Tumoren in Zusammenhang stehen, beansprucht. Unter Erkrankungen, die mit diesen Tumoren in Zusammenhang stehen, fallen z. B. die schon erwähnten Prostatakarzinome, Prostatahyperplasie (Prostatahypertrophie) etc., aber auch alle anderen tumorassoziierten Erkrankungen, in denen die erfindungsgemäßen Proteine synthetisiert und/oder sezerniert werden, werden von der Erfindung umfaßt.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird ein Verfahren zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, insbesondere malignen Tumoren, beansprucht, wobei eukaryotische Zellen mit einem Wirkstoff behandelt werden, der die Expression und/oder die Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert, und dadurch die Zunahme des Gewebevolumens und/oder die Metastasierung der Tumore zumindest partiell hemmt.

Weiterhin wird in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ein Verfahren zur Erkennung von Erkrankungen, die mit Tumoren, insbesondere malignen Tumoren, in Zusammenhang stehen, beansprucht, wobei eukaryotische Zellen mit einer Substanz in Kontakt gebracht werden, die die Expression und/oder die Funktion von von diesen Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteine nachweist.

Bei den von den Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen kann es sich in einer besonders bevorzugten Ausführungsform um die in der nachfolgend dargestellten Tabelle I aufgelisteten Proteine handeln. Somit kann die Substanz, die zum Nachweis und/oder zur Erkennung von tumorassoziierten Erkrankungen eingesetzt wird, z. B. ein

Antikörper sein, der gegen diese Proteine gerichtet ist, und in einem dem Fachmann bekannten Nachweisverfahren, wie z. B. ELISA (enzyme-linked immuno sorbent assay) eingesetzt wird. Bei solchen sogenannten Immunoassays wird der gegen das zu bestimmende Antigen gerichtete spezifische Antikörper (bzw. bei Antikörperbestimmungen homologe Testantigene) an eine Trägersubstanz (z. B. Zellulose, Polyester) gebunden, an der sich nach der Inkubation mit der Probe Immunkomplexe bilden. In einem nachfolgenden Schritt wird diesen Immunkomplexen ein markierter Antikörper zugeführt. Durch Zugabe eines homogenen Substrates zum Reaktionsansatz können die Immunkomplex-gebundenen Enzym-Substrat-Komplexe sichtbar gemacht bzw. die Antigenkonzentration in der Probe über eine photometrische Bestimmung der Immunkomplex-gebundenen Markerenzyme durch Vergleich mit Standards bekannter Enzymaktivität ermittelt werden. Weitere Substanzen, die für den diagnostischen Nachweis verwendet werden können, sind z. B. sogenannte Oligonukleotide, die mit Hilfe der sogenannten Polymerase-Kettenreaktion (PCR) geeignet sind, über ein molekulargenetisches Verfahren, bei dem selektiv bestimmte DNA-Abschnitte amplifiziert werden, einen quantitativen Nachweis der untersuchten Proteine zu erbringen. Weitere Verfahren, wie ein bekanntes Zielprotein quantitativ oder qualitativ nachgewiesen werden kann, sind dem Fachmann geläufig. Wirkstoffe, die zur zumindest partiellen Hemmung dieser Proteine genutzt werden können, sind ebenfalls dem Fachmann bekannt. So können z. B. sogenannte Antisensesequenzen als Wirkstoff genutzt werden. Weiterhin können gentechnisch veränderte Mutanten dieser Proteine erfindungsgemäß als Wirkstoff genutzt werden, so z. B. sogenannte „deficient mutants“, in denen die enzymatische Aktivität ausgeschaltet wurde.

Tabelle I: Detektierte gewebespezifische Proteine

	acc no	Protein	Scores	MW Theo.	MW Bereich	pI	Expr. cancer
1	gi 1085373	protein disulfide-isomerase EC 5.3.4.1) ER60 precursor - human	319	57883	60000	5,9 6,1	++ ++
2	gi 1374715	ATP synthase beta chain, mitochondrial precursor	284	56525	55000	5,0	++
3	gi 14729950	(XM_028869) isocitrate dehydrogenase 1 (NADP+), soluble [Homo sapiens]	94	47515	42000	6,8	++
4	gi 184326	M12387) haptoglobin precursor [Homo sapiens]	100	47073	22000	5,8	+
5	gi 4505763	(NM_000291) phosphoglycerate kinase 1 [Homo sapiens]	136	45826	40000	8,7	++
6	gi 12056473	(NM_018946) N-acetylneuraminic acid phosphate synthase, sialic acid synthase, sialic acid phosphate	167	41698	37000	6,5	++
7	gi 13111901	(BC003119) Similar to ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, alpha subunit, isofo	76	40614	25000	7,1	++
8	gi 4757756	(NM_004039) annexin A2, annexin II, lipocortin II, Annexin II (lipocortin I), calpactin I, heavy po	81	39288	25000	7,1	--
9	gi 5174541	(NM_005918) malate dehydrogenase 2, NAD (mitochondrial), Malate dehydro-genase, mitochondrial	177	36925	32000 32000	9,2 9,5	++ ++
10	gi 4506237	(NM_002818) proteasome (prosome, macropain) activator subunit 2 (PA28 beta), Proteasome activator s	96	27863	30000 30000	5,5 5,6	o ++
11	gi 225915	gamma seminoprotein [Homo sapiens]	120	27843	25000 25000 32000 32000 32000	6,5 6,8 6,8 7,1 7,5	++ ++ o o o
12	gi 999892	Chain A, Triosephosphate Isomerase (Tim) (E.C.5.3.1.1) Complexed With 2-Phosphoglycolic Acid	200	27407	25000 25000 25000	6,5 6,8 7,1	+ + o
13	gi 4507359	(NM_003186) transgelin; smooth muscle protein 22-alpha; 22 kDa actin-binding protein; SM22-alpha	100	22638	15000 20000 20000 21000 23000 23000 23000 23000	5,3 6,6 6,1 6,6 6,9 8,2 9,1 9,6	- - -- -- o o o +
14	gi 5729842	(NM_006708) glyoxalase I, lactoyl glutathione lyase, lactoylglutathione lyase [Homo sapiens]	135	21415	22000 22000 22000	4,8 4,9 5,0	++ ++ ++
15	gi 4505621	(NM_002567) prostatic binding	160	21398	20000	7,9	+

		protein, phosphatidylethanolamine binding protein [Homo sapiens]					
16	gi 2250701	(AB001517) KNP-I beta protein [Homo sapiens]	68	20819	25000	7,1	++
17	gi 4827038	(NM_005079) tumor protein D52 [Homo sapiens]	131	19851	25000	4,7	++
18	gi 5031635	(NM_005507) cofilin 1 (non-muscle) [Homo sapiens]	125	19199	17000 18000	8,5 6,5	o ++
19	gi 4507387	(NM_003197) transcription elongation factor B polypeptide 1-like, organ of Corti protein 2 [Homo sapiens]	74	19177	18000	4,2	-
20	gi 4503545	(NM_001970) eukaryotic translation initiation factor 5A [Homo sapiens]	102	17530	17000	5,1	+
21	gi 10120703	Chain A, Structure of Human Transthyretin Complexed With Bromophenols: A New Mode Of Binding	164	13930	17000 37000	5,6 5,6	++ o
22	gi 4557581	Fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	60*	15155	18000	6,5	++

Scores = mit Hilfe der MASCOT-Technik ermittelte Treffer.

MW Theo. = Theoretisches (berechnetes) Molekulargewicht.

MW Bereich = Im Molekulargewichtsbereich der angegebenen Markerproteine gefunden.

5 pI = isoelektrische Punkt

Expr. Cancer (0 = sowohl in malignem als auch benignem Gewebe gefunden; + upreguliert; - downreguliert).

- 10 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist der Wirkstoff oder die Substanz gegen die von den Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteine selbst gerichtet. Wie schon beschrieben, kann es sich bei den Wirkstoffen z. B. um Antisensesequenzen handeln. Diese sind dann direkt gegen die synthetisierten und/oder sezernierten Proteine gerichtet. Weiterhin kann es sich bei dem Wirkstoff um gentechnisch veränderte Mutanten handeln. So können z. B. durch gentechnische Verfahren Mutanten, in denen das katalytische Zentrum ausgeschaltet wird (sogenannte deficient-Mutanten), konstruiert werden. Dabei werden zwar die tumorassoziierten Proteine synthetisiert, sie weisen aber keine
- 15 oder nur eine verminderte enzymatische Aktivität auf. Diese deficient-Mutanten, die zuvor in das Tumorgewebe eingeschleust wurden, können die ihnen zugewiesene Aufgabe im Tumorgewebe nicht erfüllen, womit
- 20

die Zunahme des Gewebevolumens und/oder die Metastasierung des Tumors zumindest partiell gehemmt wird.

5 In einer anderen bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist der Wirkstoff gegen Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologische Vorläufer von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen gerichtet. Diese Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologische Vorläufer können z. B. up- und downstream liegende Mitglieder der Transduktionskaskade der in Tabelle I aufgelisteten Proteine, Transkriptionsfaktoren, die den Expressionslevel der genannten
10 Proteine regulieren, aber auch bis jetzt unbekannte Moleküle sein, die durch den Wirkstoff beeinflusst werden und an der Expression und/oder Funktion der genannten Proteine beteiligt sind.

15 Bei der Erfindung ist es möglich, bekannte sowie noch unbekannte Wirkstoffe oder Substanzen zu verwenden. So kann z. B. der Wirkstoff oder die Substanz ein Polynukleotid sein, welches ein Peptid, insbesondere ein Polypeptid, kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Weiterhin kann
20 der Wirkstoff oder die Substanz ein Peptid sein, vorzugsweise ein Polypeptid, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Weiterhin kann der Wirkstoff
25 oder die Substanz ein „small molecular compound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) < 1.000, sein.

30 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei dem malignen Tumor um ein Prostatakarzinom. Wie schon beschrieben, stellen Prostatakarzinome die häufigsten malignen Tumore bei Männern dar. Nur wenn ein Prostatatumor in einem frühen Stadium nachgewie-

sen werden kann, z. B. durch prostataspezifische antigenbasierende Massenscreenings (Bartsch G, Horninger W, Klocker H, Reissigl A, Oberaigner W, Schonitzer D, Severi G, Robertson C, Boyle P: Prostate cancer mortality after introduction of prostate-specific antigen mass screening in the Federal State of Tyrol, Austria. *Urology* 2001; 58:417-24), kann die reine (vorbeugende) chirurgische Entnahme der Prostata in Betracht gezogen werden (Bukkapatnam R, Pow-Sang JM: Radical prostatectomy in the management of clinically localized prostate cancer. *Cancer Control* 2001; 8:496-502; Pentyla SN, Lee J, Hsieh K, Waltzer WC, Trocchia A, Musacchia L, Rebecchi MJ, Khan SA: Prostate cancer: a comprehensive review. *Med Oncol* 2000; 17:85-105). Für die fortgeschrittene, nicht mehr auf ein Organ begrenzte Erkrankung, ist eine vorbeugende Entnahme der Prostata nicht mehr ausreichend. Für diese, zum Teil inoperativen, Prostatatumore (Prostatakarzinome) ist, wie schon beschrieben, die Hemmung der männlichen Sexualhormone eine mögliche Therapiewahl (Hussain A, Dawson N: Management of advanced/metastatic prostate cancer: 2000 update. *Oncology (Huntingt)* 2000; 14; 1677-88; discussion 1688, 1691-4). Diese Hemmung der Produktion männlicher Sexualhormone, zum Teil in Kombination mit der chirurgischen oder pharmakologischen Kastration, inhibiert zum Teil die Proliferation und Metastasierung des Tumors und erlaubt damit dessen Kontrolle für einen gewissen Zeitraum (Afrin LB, Ergul SM: Medical therapy of prostate cancer: 1999. *J S C Med Assoc* 2000; 96:77-84; Auclerc G, Antoine EC, Cajfinger F, Brunet-Pommeyrol A, Agazia C, Khayat D: Management of advanced prostate cancer. *Oncologist* 2000; 5:36-44). Die meisten Prostatatumore entwickeln dabei mit der Zeit eine gewisse Resistenz gegenüber dieser endokrinologischen Therapie, und mit der Zeit werden sie androgen-insensitiv (Eder IE, Culig Z, Putz T, Nessler-Menardi C, Bartsch G, Klocker H: Molecular biology of the androgen receptor: from molecular understanding to the clinic. *Eur Urol* 2001; 40:241-51; Crawford ED, Rosenblum M, Ziada AM, Lange PH: Hormone refractory prostate cancer. *Urology* 1999; 54:1-7). Weitere mögliche

Therapiemöglichkeiten, wie z. B. die Verwendung von cytotoxischen Agenzien (Heidenreich A, von Knobloch R, Hofmann R: Current status of cytotoxic chemotherapy in hormone refractory prostate cancer: Eur Urol 2001; 39:121-30), Gentherapie (Miyake H, Hara I, Kamidono S, Gleave ME: Novel therapeutic strategy for advanced prostate cancer using antisense oligodeoxynucleotides targeting anti-apoptotic genes upregulated after androgen withdrawal to delay androgen-independent progression and enhance chemosensitivity. Int J. Urol 2001; 8:337-49) und Immunotherapie (Rini BI, Small EJ: Immunotherapy for prostate cancer. Curr Oncol Rep 2001; 3:418-23) befinden sich zwar in der klinischen Erprobung, bis jetzt konnte aber kein signifikanter Erfolg bei der Prostatakarzinombehandlung erzielt werden (DiPaola RS, Kumar P, Hait WN, Weiss RE: State-of-the-art prostate cancer treatment and research. A report from the Cancer Institute of New Jersey. N J Med 2001; 98:23-33). Die Identifizierung von Genen, die nur bei Tumoren exprimiert werden, bzw. in denen eine unterschiedliche Expression in benignen und malignen Tumoren nachgewiesen werden kann, ist deshalb ein erfolgsversprechender Ansatz zur Therapie dieser Tumore (Magee JA, Araki T, Patil S, Ehrig T, True L, Humphrey PA, Catalona WJ, Watson MA, Milbrandt J: Expression profiling reveals hepsin overexpression in prostate cancer. Cancer Res 2001; 61:5692-6; Welsh JB, Sapinoso LM, Su AI, Kern SG, Wang-Rodriguez J, Moskaluk CA, Frierson HF, Jr., Hampton GM: Analysis of gene expression identifies candidate markers and pharmacological targets in prostate cancer. Cancer Res 2001; 61:5974-8; Stamey TA, Warrington JA, Caldwell MC, Chen Z, Fan Z, Mahadevappa M, McNeal JE, Nolley R, Zhang Z: Molecular genetic profiling of Gleason grade 4/5 prostate cancers compared to benign prostatic hyperplasia. J Urol 2001; 166:2171-7; Dhanasekaran SM, Barrette TR, Ghosh D, Shah R, Varambally S, Kurachi K, Pienta KJ, Rubin MA, Chinnaiyan AM: Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. Nature 2001; 412:822-6; Waghray A, Schober M, Reroze F, Yao F, Virgin J, Chen YQ: Identification of differentially expressed genes by serial

analysis of gene expression in human prostate cancer. Cancer Res 2001; 61:4283-6; Chaib H, Cockrell EK, Rubin MA, Macoska JA: Profiling and verification of gene expression patterns in normal and malignant human prostate tissues by cDNA microarray analysis. Neoplasia 2001; 3:43-52; Chetcuti A, Margan S, Mann S, Russell P, Handelsman D, Rogers J, Dong Q: Identification of differentially expressed genes in organ-confined prostate cancer by gene expression array. Prostate 2001; 47:132-40). Deshalb kann durch Inhibierung der beschriebenen tumorassoziierten Proteine erfindungsgemäß ein Therapieansatz zur
10 Behandlung dieser Tumore angeboten werden.

Der Wirkstoff oder die Substanz kann dabei oral, intravenös, topisch und/oder per Inhalation in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform verabreicht werden. Die Verabreichungsform hängt dabei vom Tumor
15 selbst sowie der Konstitution des Patienten ab. Weitere Verabreichungsformen sind dem Fachmann bekannt.

Weiterhin wird von der Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung umfaßt, in der eine wirksame Menge mindestens eines Wirkstoffes,
20 der die Expression und/oder die Funktion von von Tumoren, insbesondere von malignen Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert, und gegebenenfalls einen pharmazeutischen Träger. Bei dem Wirkstoff kann es sich dabei um ein Polynukleotid handeln, welches ein Peptid, insbesondere ein Polypeptid,
25 kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Weiterhin kann der Wirkstoff ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, sein, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder
30 Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Auch kann der Wirkstoff ein sogenannter „small molecular com-

pound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) < 1.000, sein. Zu den weiteren Merkmalen eines solchen Wirkstoffes wird auf den entsprechenden bisherigen Text der Beschreibung Bezug genommen.

5

Erfindungsgemäß ist auch eine pharmazeutische Zusammensetzung umfaßt, in der eine wirksame Menge mindestens eines Wirkstoffes, der die Expression und/oder Funktion von Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert, und gegebenenfalls einen pharmazeutischen Träger, umfaßt. Dabei kann es sich bei dem Wirkstoff um ein Polynukleotid handeln, welches ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Auch kann der Wirkstoff ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, sein, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Ein weiterer erfindungsgemäßer Wirkstoff kann z. B. ein „small molecular compound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) < 1.000, sein. Zu den weiteren Merkmalen eines solchen Wirkstoffes sowie der Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern, gegen die dieser Wirkstoff gerichtet ist, wird auf den entsprechenden bisherigen Text der Beschreibung Bezug genommen.

30

Schließlich umfaßt die Erfindung ein Diagnosekit, wobei in diesem Diagnosekit mindestens eine Substanz zum Nachweis der Expression

und/oder Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen enthalten ist, zur Erkennung von Erkrankungen, die mit diesen Tumoren in Zusammenhang stehen. Dabei kann z. B. eine dementsprechende Erkrankung ein Prostatakarzinom sein, was in einer besonders bevorzugten Ausführungsform beansprucht wird. Zu weiteren Merkmalen einer solchen Substanz wird auf den entsprechenden bisherigen Text der Beschreibung Bezug genommen.

- 10 Die bestehenden Merkmale und weitere Merkmale der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung von bevorzugten Ausführungsformen in Verbindung mit den Unteransprüchen und den Figuren. Hierbei können die einzelnen Merkmale jeweils für sich oder zu mehreren in Kombination miteinander verwirklicht sein.

15

In den Abbildungen zeigen:

Fig. 1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus.

- 20 Fig. 2: Gelelektrophoretische sowie MS-Analyse von benignem und malignem Prostatagewebe und den äquivalenten Spots.

Fig. 3: Präperative Gele mit gewebespezifischer Proteinexpression.

25

Material und Methoden:

Patienten und Gewebeproben:

30

Benignes und malignes Prostatagewebe wurde von Patienten, die zuvor einer Prostatektomie unterzogen wurden, erhalten. Die Patienten wur-

den mit Hilfe des PSA (prostata specific antigen) Screenings nachgewiesen, und die Tumore wurden mit Ultraschall bestätigt. Eine Einwilligung jedes Patienten wurde vor Durchführung der Operation eingeholt.

- 5 Sofort nach der Entnahme der Prostata wurde diese in eine sterile Box überführt und dort gekühlt. Die Proben wurden zum Pathologen überführt, wo 0,5 bis 1 cm dicke Gewebeschnitte gemacht wurden. Die Schnitte wurden in eine linke und eine rechte Hälfte unterteilt, in eine „freezing matrix“ eingebettet und schockgefroren. Der Rest der Prostata
- 10 wurde in Formalin fixiert und entsprechend Standardverfahren weiterbehandelt. Für den Erhalt von Gewebeproben wurden dünne Sektionen von beiden Seiten der Prostata entnommen und mit Hematoxilin-Aeosin angefärbt. Der Pathologe lokalisierte und markierte den Tumor. Tumorgewebe wurde aus den Hematoxilin-Aeosin-gefärbten Streifen entnom-
- 15 men und bei -80°C aufbewahrt. Markierte benigne Kontrollstreifen wurden von nicht-tumorbefallenen Regionen entnommen und einer identischen Behandlung unterzogen. Die Tumore wurden, sofern erforderlich, bei -80°C gelagert.

20

Proteomics Analyse:

- Protein Alkylierung, Jodierung, 2D-PAGE und sowie die Datenanalyse sind, entsprechend Standardverfahren erfolgt. Radioaktives Jod stammt
- 25 von Amersham Biosciences (Freiburg). Die Markierung von Proteinen mit Jod I-125 oder I-131 wurden einzeln mit identischen Konzentrationen an Jod ausgeführt. Sämtliche radioaktiven Arbeiten sind entsprechend der „Strahlenschutzverordnung 2001“ (Deutschland) entstanden. Für die 2D-PAGE sind die Proben miteinander vermischt worden und entsprechend dem Schema von Figur 1 co-elektrophoretisch aufgetrennt wor-
- 30 den. Die radioaktiven Messungen sind mit einem „Multiple Photon De-

tektion“ (MPD) oder einem Phosphorimager (Fuji FLA 3000, Raytest, Straubenhard, Deutschland) durchgeführt worden.

Die „Multiplen Photon Detektion“ Messungen sind an 1600 Pixel MPD
5 Imagers (BioTracers Inc., Herndon, USA), entsprechend den Anweisun-
gen des Herstellers für mindestens 24 Stunden, für ein 24 cm x 24 cm
Bereich pro Messung durchgeführt worden. Dabei wurde eine Scannung
von 0,5 mm pro Pixel eingestellt. In einigen Fällen sind kleinere Regio-
nen für eine längere Zeit gescannt worden, um eine höhere Sensitivität
10 zu erzielen, oder bei 0,25 mm pro Pixel gescannt worden, um die Auflö-
sung zu erhöhen. Die MPD Imagers wurden dabei darauf eingestellt,
entweder I-125 oder I-131 bei jeder Messung zu detektieren. Aufgrund
der geringeren Halbwertszeit von I-131 ist dieses Isotop immer vor I-125
für jede einzelne Probe gemessen worden. MPD Daten sind mit der
15 IMAGEVIEW Software (BioTraces) in Matrizendaten überführt worden.
Diese Daten sind dann mit der BIOPREPARATION Software entspre-
chend den Anweisungen des Herstellers analysiert worden. Radioaktive
Daten wurden mit Hilfe eines Algorithmus für die Analyse herkömmlicher
Software in TIFF-Daten konvertiert. Einige radioaktive Messungen wur-
20 den mit einem Phosphorimager durchgeführt.

Die Proteinidentifizierung wurde mit präoperativen 2D-PAGE-Gelen
durchgeführt. Diese Gele enthalten bis zu 1 mg Protein, die unter identi-
schen chemischen Bedingungen wie bei der radioaktiven Jodierung, je-
25 doch unter Zugabe nicht-radioaktiver Jodmoleküle, jodiert wurden. Sil-
bergefärbte Proteine mit einem Laufverhalten wie die radioaktiven Pro-
teinen wurden mit Hilfe des Genomic Solutions Flexys Robot automati-
siert eingesammelt. In einigen Fällen wurden die silbergefärbten Protei-
ne an den Stellen des Gels entfernt, an denen kein radioaktives Signal
30 vorhanden war, an denen jedoch die Silbergele zwischen benignen und
malignen Gewebe sich unterschieden. Gelteile wurden mit Trypsin au-
tomatisch in einem Genomic Solutions Investigator Progest verdaut, und

10 % der erhaltenen Proteine wurden auf einen MALDI Template mit Hilfe eines Genomic Solutions Investigator ProMS Roboter aufgetragen. MALDI-TOF wurde entsprechend den Angaben des Herstellers an einem Bruker AutoFlex durchgeführt. Sofern nötig, wurden bis zu 90% des durch den Trypsinverdau erhaltenen Peptides mit Hilfe der LC/MS/MS Methode analysiert. Dabei war eine LC-Packing Ultimate Micro HPLC mit einem Bruker Esquire Ionenfallen-Massenspektrometer verbunden, oder die Proben wurden mit Hilfe der Nanospray MS/MS Methode am gleichen Massenspektrometer analysiert. Die Proteinidentifizierung wurde mit Hilfe des MASCOT Programms Version 1.07 (Matrix Science, UK), unter Nutzung eigener Algorithmen, durchgeführt.

Resultate:

15

Fig. 1 zeigt eine schematische Darstellung des den Resultaten zugrundeliegenden Versuchsaufbaus. Dabei werden zwei zu analysierenden Proben A und B jeweils separat mit I-125 und I-131 markiert, um die jodierten Proben 125-A, 125-B, 131-A und 131-B zu erhalten. In den Gelen 1 und 2 wird jede Probe jeweils im Vergleich zur gleichen, aber anders markierten Probe analysiert, wie es auch in den Figuren dargestellt ist. In den Gelen 3 und 4 werden die Proben A und B gegen die entsprechende andere Probe unter den gleichen Bedingungen analysiert. Somit enthalten diese Gele vier Replikate der Proben A und B, wobei diese in direkter Beziehung zu den Proben A und B stehen

Fig. 2 zeigt die Ergebnisse dieser Versuche. Dabei repräsentiert Fig. 2 A malignes, 2 B benignes sowie 2 C das vergleichende Gel (2 A + 2 B). Fig. 2 C zeigt die unterschiedliche Expression einzelner Proteine in den unterschiedlichen Geweben. Die Ergebnisse dieser Analysen sind in der schon dargestellten Tabelle I zusammengefaßt.

Fig. 3 zeigt am Beispiel zweier präoperativer Gele (pH-Bereich 4-10) die ermittelten Proteine. Es ist insbesondere darauf hinzuweisen, daß mehrere Isoformen einzelner Proteine gefunden wurden. So existieren z. B. für Protein 11 (gamma-seminoprotein) insgesamt 5 Isoformen, die bei pH 6,5 – 7,5 detektiert wurden, womit die Existenz mehrerer Isoformen ein und desselben Proteins bewiesen wurde. Weiterhin konnte gezeigt werden, daß nicht nur bestimmte Proteine, sondern vor allem auch spezifische Isoformen einzelner Proteine, bei Tumoren gebildet werden. Ferner kann gezeigt werden, daß zum Teil die Expression bestimmter Proteine (siehe Tabelle I) gehemmt, d.h. downreguliert wird. Somit stellen diese Proteine geeignete Targets für bekannte und noch zu entwickelnde Wirkstoffe für die Behandlung der mit ihnen assoziierten Erkrankungen, sowie geeignete Targets für den Nachweis dieser Erkrankungen, dar.

Patentansprüche

1. Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression und/oder die Funktion von vom Tumor synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen in eukaryotischen Zellen beeinflusst, insbesondere inhibiert, und dadurch die Zunahme des Gewebevolumens und/oder die Metastasierung des Tumors zumindest partiell hemmt.
2. Verwendung eines Wirkstoffes zur Herstellung eines Medikamentes oder einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression und/oder die Funktion von vom Tumor synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen in eukaryotischen Zellen beeinflusst, insbesondere inhibiert, und dadurch die Zunahme des Gewebevolumens und/oder die Metastasierung des Tumors zumindest partiell hemmt.
3. Verwendung einer Substanz zum Nachweis der Expression und/oder der Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen in eukaryotischen Zellen, zur Erkennung von Erkrankungen, die mit diesen Tumoren in Zusammenhang stehen.
4. Verfahren zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, dadurch gekennzeichnet, daß eukaryotische Zellen mit einem Wirkstoff behandelt werden, der die Expression und/oder die Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere in-

hibiert, und dadurch die Zunahme des Gewebevolumens und/oder die Metastasierung der Tumoren zumindest partiell hemmt.

5. Verfahren zur Erkennung von Erkrankungen, die mit Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, in Zusammenhang stehen, dadurch gekennzeichnet, daß eukaryotische Zellen mit einer Substanz in Kontakt gebracht werden, die die Expression und/oder die Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen nachweist.
6. Verwendung oder Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei den von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen um die Proteine der Tabelle I, insbesondere derer Isoformen, handelt.
7. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz gegen die von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteine gerichtet ist.
8. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz gegen Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen gerichtet ist.
9. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz ein Polynukleotid ist, welches ein Peptid, insbesondere ein Polypeptid, kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren synthetisierten

und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert.

10. Verwendung oder Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, ist, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert.
11. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz ein „small molecular compound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) < 1.000, ist.
12. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem malignen Tumoren um Prostatakarzinome handelt.
13. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz oral, intravenös, topisch und/oder per Inhalation verabreichbar ist.
14. Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend eine wirksame Menge mindestens eines Wirkstoffes, der die Expression und/oder Funktion von von Tumoren, insbesondere malignen Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert, und gegebenenfalls einen pharmazeutischen Träger.

15. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein Polynukleotid ist, welches ein Peptid, insbesondere ein Polypeptid, kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflußt, insbesondere inhibiert.
16. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, ist, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflußt, insbesondere inhibiert.
17. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 14 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein „small molecular compound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) < 1.000 , ist.
18. Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend eine wirksame Menge mindestens eines Wirkstoffes, der die Expression und/oder Funktion von Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflußt, insbesondere inhibiert, und gegebenenfalls einen pharmazeutischen Träger.
19. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein Polynukleotid ist, welches ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von Aktiva-

toren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert.

20. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, ist, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert.
21. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 18 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein „small molecular compound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) < 1.000, ist.
22. Diagnosekit, umfassend mindestens eine Substanz zum Nachweis von Expression und/oder Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen, zur Erkennung von Erkrankungen, die mit diesen Tumoren in Zusammenhang stehen.
23. Diagnosekit nach Anspruch 22 zur Erkennung von Prostatakarzinomen.

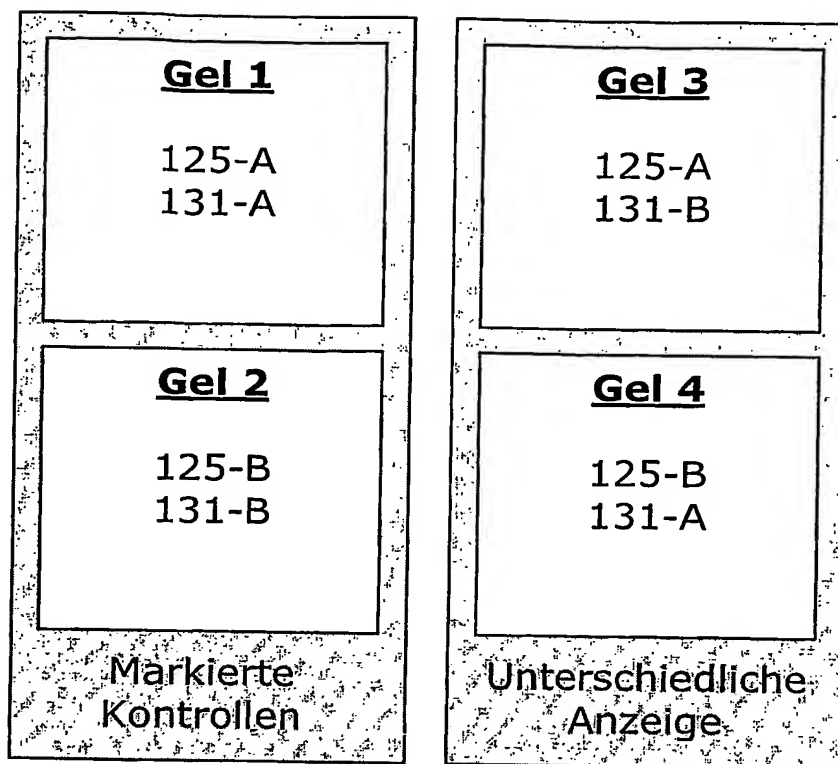
- - - - -

Zusammenfassung

Verwendung von Substanzen zur Behandlung von Tumoren

- 5 Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung eines Wirkstoffes sowie ein Verfahren zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, diagnostischen Nachweis von mit diesen Tumoren assoziierten Erkrankungen, sowie diesbezügliche pharmazeutische Zusammensetzungen und Kits.

10



A = Maligner
B = Benigner

B

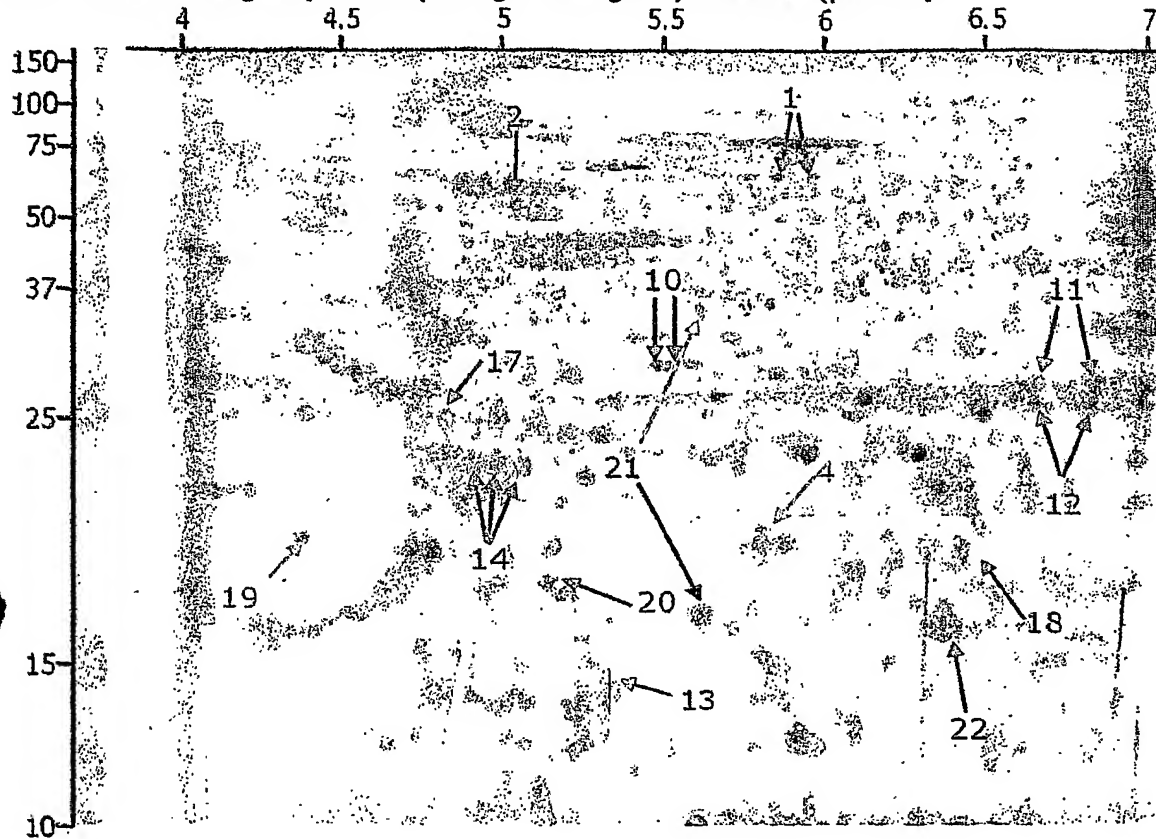
A

C

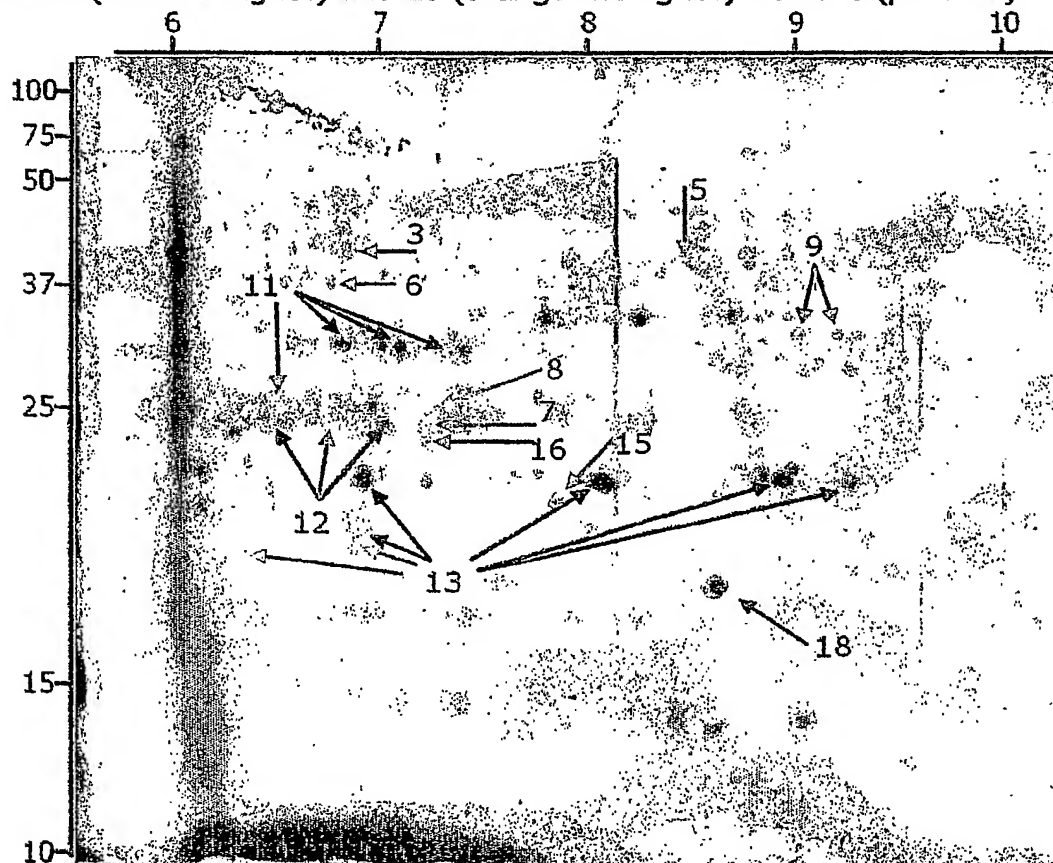
Vergleichendes Gel:
Blau = Benigner
Orange = Maligner
Schwarz = Beides



Gel 7 (blau=malignes) und 8 (orange=benignes) Gewebe (pH 4-7)



Gel 9 (blau=malignes) und 10 (orange=benignes) Gewebe (pH 6-10)



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.